

11 Veröffentlichungsnummer: **0 055 817**  
**A2**

12 **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

21 Anmeldenummer: **81109220.4**

61 Int. Cl.<sup>3</sup>: **A 61 K 9/00**

22 Anmeldetag: **29.10.81**

30 Priorität: **19.12.80 DE 3048000**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**14.07.82 Patentblatt 82/28**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**BE CH DE FR GB LI NL**

71 Anmelder: **BASF Aktiengesellschaft**  
**Carl-Bosch-Strasse 38**  
**D-6700 Ludwigshafen(DE)**

72 Erfinder: **Hoppe, Peter Paul, Dr.**  
**In der Dreispitz 7**  
**D-6706 Wachenheim(DE)**

72 Erfinder: **Schnelder, Joachim U., Dr.**  
**Plauserstrasse 1**  
**D-6719 Welsenheim(DE)**

72 Erfinder: **Schulz, Bernhard, Dr.**  
**Kurpfalzring 28**  
**D-6830 Schwetzingen(DE)**

72 Erfinder: **Tiefenbacher, Hubert, Dr.**  
**Hauaeckerstrasse 49**  
**D-7022 Leinfelden-Echterdingen(DE)**

54 **Stabile injizierbare beta-Carotin-Solubilisate und Verfahren zu ihrer Herstellung.**

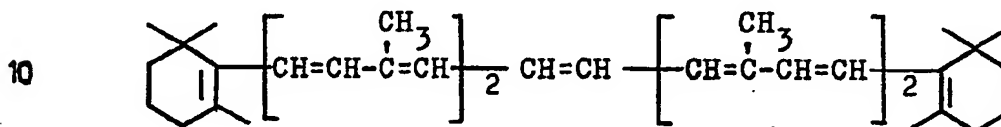
57 Verfahren zur Herstellung von  $\beta$ -Carotin-Solubilisaten, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man in Gegenwart eines üblichen Antioxidans in einen auf 160 bis 180°C erhitzten, nicht-ionogenen, zur Herstellung von Solubilisaten geeigneten Emulgator  $\beta$ -Carotin in Mengen von insgesamt 20 bis 30 Gew.-%, bezogen auf den Emulgator, einträgt, die heiße homogene Mischung durch Zugabe von Wasser schnell auf Temperaturen unter 100°C abkühlt und durch weitere Wasserzugabe die Zubereitung auf die gewünschte Konzentration von 3 bis 6 Gew.-% einstellt, sowie die nach diesem Verfahren erhaltenen  $\beta$ -Carotin-Solubilisate. Als nichtionogene Emulgatoren werden solche verwendet, die einen HBL-Wert von 12 bis 16 aufweisen, insbesondere ethoxylierte Triglyceride von Fettsäuren mit 12 bis 18 C-Atomen, die 20 bis 60 Oxethyleinheiten enthalten. Parenterale Verabreichung der erfindungsgemäßen stabilen  $\beta$ -Carotin-Solubilisate beheben beim Rind den durch  $\beta$ -Carotinmangel bedingten gestörten Brunstlauf und die verschlechterte Fruchtbarkeit.

EP 0 055 817 A2

Stabile injizierbare  $\beta$ -Carotin-Solubilisate  
und Verfahren zu ihrer Herstellung

Die Erfindung betrifft stabile injizierbare Solubilisate  
5 von  $\beta$ -Carotin sowie ein Verfahren zu ihrer Herstellung.

$\beta$ -Carotin hat die chemische Formel:



$\beta$ -Carotinmangel beim Rind bedingt nach den Untersuchungen  
von Lotthammer (vgl. Dtsch. Tierärztl. Wschr. Nr. 82  
15 (1975) S. 444-49; Nr. 83 (1976) S. 353-58; Nr. 84 (1977)  
S. 220-26 und S. 307-310; Nr. 85 (1978) S. 7-12) einen  
gestörten Brunstablauf mit schlechter Fruchtbarkeit.  
Kennzeichen des Mangels ist ein niedriger  $\beta$ -Carotin-Blut-  
spiegel.

20 Bislang wird  $\beta$ -Carotin-Mangel durch Fütterung von carotin-  
reichen Einzelfuttermitteln wie Luzernegrünmehl, Grasgrün-  
mehl oder Karotten und/oder synthetischem  $\beta$ -Carotin-Trocken-  
pulver behandelt. Bei oraler Verabreichung von  $\beta$ -Carotin  
25 ist jedoch der Einfluß auf den  $\beta$ -Carotin-Blutspiegel gering,  
weil  $\beta$ -Carotin aus dem Darmtrakt schlecht resorbiert wird.

Dagegen kann durch parenterale Verabreichung von  $\beta$ -Carotin  
der Blutspiegel schnell und über einen längeren Zeitraum  
30 erhöht werden.

Dazu müssen die zu injizierenden Zubereitungen in möglichst  
fein verteilter Form einen relativ hohen  $\beta$ -Carotin-Gehalt  
aufweisen, damit das einzuspritzende Volumen möglichst klein  
35 ist.

Bei Tieren, die einen niederen  $\beta$ -Carotin-Spiegel im Blutplasma aufweisen, ist eine schnelle (innerhalb zwei Tagen) und ökonomische Anhebung des  $\beta$ -Carotin-Spiegels auf gastroenteralem Wege nicht möglich. Das  $\beta$ -Carotin muß  
5 parenteral verabreicht werden.

Übliche  $\beta$ -Carotin-Lösungen in Pflanzenölen weisen jedoch höchstens einen Gehalt von 0,3 bis 0,5 % auf (Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Band 11 (1976),  
10 Seite 106). Solche Konzentrationen sind aber zu niedrig, um in einem gebräuchlichen Injektionsvolumen von 10-20 ml die erforderliche Dosis von 500 mg  $\beta$ -Carotin zu verabreichen.

15 Aus der Japanischen Patentveröffentlichung Nr. 38 556/1970 ist es bekannt, Carotinoid-Verbindungen durch gemeinsames Lösen mit aliphatischen Estern von Zucker, thermisches Behandeln und Entfernen des Lösungsmittels in wasserlösliche Carotinoidpräparate zu überführen. Auf diese Weise können  
20 jedoch nur etwa 0,2%ige Lösungen von  $\beta$ -Carotin hergestellt werden.

Ferner sind aus der DE-AS 12 10 127 Carotin-Emulsionen bekannt, die polyoxethyliertes Ricinusöl oder Polyoxy-  
25 ethylen-Sorbitan-Fettsäureester als Emulgatoren sowie ionenaktive Netzmittel enthalten. Diese Emulsionen sind jedoch nicht längere Zeit stabil, da das Carotin auskristallisiert.

30 Deshalb wurde gemäß DE-OS 22 36 899 schon vorgeschlagen, durch Verwendung spezieller Seifen, nämlich der Seifen von Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan mit gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren mit 9 bis 20 Kohlenstoffatomen höher konzentrierte Emulsionen herzustellen. Die dort

vorgeschlagene Methode befriedigt aber noch nicht, da einerseits die Durchführung in der Praxis Schwierigkeiten bereitet und andererseits nur mit Wasser mischbare Carotinoid-Emulsionen hergestellt werden können, die maximal 4 %  $\beta$ -Carotin enthalten.

Es war daher Aufgabe der Erfindung, höher konzentrierte klare stabile Emulsionen bzw. Solubilisate des  $\beta$ -Carotins herzustellen.

Gegenstand der Erfindung sind ein Verfahren zur Herstellung von  $\beta$ -Carotin-Solubilisaten, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man in Gegenwart eines üblichen Antioxidans in einen auf 160 bis 180°C erhitzten, nicht-ionogenen, zur Herstellung von Solubilisaten geeigneten Emulgator  $\beta$ -Carotin in Mengen von insgesamt 20 bis 30 Gew.%, bezogen auf den Emulgator, einträgt, die heiße homogene Mischung durch Zugabe von Wasser schnell auf Temperaturen unter 100°C abkühlt und durch weitere Wasserzugabe die Zubereitung auf die gewünschte Konzentration von 3 bis 6 Gew.% einstellt, sowie die durch dieses Verfahren erhältlichen stabilen injizierbaren  $\beta$ -Carotin-Solubilisate.

Es war überraschend, daß auf die beschriebene Weise nicht nur eine milchig trübe  $\beta$ -Carotin-Emulsion, sondern ein durchsichtiges  $\beta$ -Carotin-Solubilisat mit einem  $\beta$ -Carotin-Gehalt von bis zu 6 Gew.% erhalten werden kann.

Als nicht-ionogene, zur Herstellung von Solubilisaten geeignete Emulgatoren kommen solche mit einem HLB-Wert (vgl. H.P. Fiedler, Lexikon der Pharmazie, Kosmetik und angrenzenden Gebiete, 1971, Seiten 263-270, besonders Seiten 267-69), von 12 bis 16 in Betracht, insbesondere ethoxylierte Triglyceride von Fettsäuren mit 12 bis 18 Kohlenstoffato-

men, die 20 bis 60 Oxethyleneinheiten enthalten; ethoxylierte Sorbitanfettsäureester mit etwa 20 Oxethyleneinheiten oder ethoxylierte Monohydroxifettsäuren mit 14 bis 17 Oxethyleneinheiten, wie sie in der DE-OS 29 11 241 beschrieben sind. Derartige Emulgatoren heißen auch Solubilisatoren, weil sie sich in Wasser lösen und dadurch als Lösungsvermittler für lipophile Substanzen wirken, indem diese in micellarer Lösung gehalten werden. Micellare Lösungen zeichnen sich durch Transparenz und Klarheit aus.

10

Als besonders geeignete nicht-ionogene Emulgatoren seien beispielsweise genannt:

Glycerinpolyoxethylenglykolricinoleat, Glycerinpolyoxethylenglykoloxysearar, Polyoxethylen(20)sorbitanmonooleat, Polyoxethylen(20)sorbitanmonosearar und Monohydroxyseararinsäure mit 15 Oxethyleneinheiten.

20

Bei der Herstellung der Solubilisate geht man im einzelnen so vor, daß man in den auf 160 bis 180°C erwärmten Emulgator, der übliche Antioxydantien enthalten kann, 20 bis 30 Gew.% an  $\beta$ -Carotin, bezogen auf den Emulgator, portionsweise zugibt, wobei das  $\beta$ -Carotin schmilzt und sich praktisch sofort löst. Durch Zugabe von Wasser senkt man die Temperatur der Mischung rasch auf unter 100°C. Anschließend stellt man durch weitere Wasserzugabe die Zubereitung auf die gewünschte Konzentration ein. Nach Filtration und Abkühlen auf Raumtemperatur erhält man ein stabiles 4- bis 6gew.%iges, vorzugsweise ein etwa 5%iges, transparentes Solubilisat das noch nach 12 Monaten stabil ist.

30

Als übliche Antioxydantien, die bei dem erfindungsgemäßen Verfahren mitverwendet werden können, seien beispielsweise genannt: Butylhydroxitoluol, Butylhydroxianisol und

35

d,l- $\alpha$ -Tocopherol. Die Antioxydantien verwendet man im allgemeinen in Mengen von 10 bis 20 Gew.%, bezogen auf eingesetztes  $\beta$ -Carotin.

- 5 Gemäß den Angaben des Beispiels der DE-OS 22 36 899 soll bei Einbringen des  $\beta$ -Carotins in den Emulgator die Temperatur möglichst 110°C nicht übersteigen. Diese Forderung ist für den Fachmann verständlich, da bei höheren Temperaturen eine Isomerisierung des  $\beta$ -Carotins zu befürchten ist.

10

Es war daher überraschend, daß bei der erfindungsgemäßen Arbeitsweise ein für Injektionszwecke ausreichend konzentriertes Solubilisat erhalten wird, das im Tier die volle Wirkung entfaltet, obgleich ein Teil des  $\beta$ -Carotins vermutlich isomerisiert.

15

#### Beispiel

- 20 In einem 2-l-4-Hals-Rundkolben mit Rührer, Stickstoffeinlaß und Rückflußkühler werden 300 g Cremophor EL<sup>®</sup> (Glycerinpolyoxethylenglykolricinoleat) und 6 g Butylhydroxitoluol eingebracht. Unter Rühren und Stickstoffbegasung wird das Gemisch erwärmt bis eine Innentemperatur von 160°C erreicht ist. Innerhalb von ca. 5 Minuten
- 25 werden 66 g  $\beta$ -Carotin hinzugegeben. Man entfernt das Heizbad und gibt tropfenweise Wasser hinzu bis die Innentemperatur des Gemisches auf 100°C abgesunken ist. Durch rasche Zugabe der restlichen Menge Wasser (Gesamtmenge 828 g) und Erwärmen mit dem Heizbad wird eine Temperatur
- 30 von 60 bis 80°C eingestellt. Man filtriert das noch warme Solubilisat durch eine Glasfilterfritte und erhält eine ca. 5%ige transparente  $\beta$ -Carotinlösung, die als Injektionslösung geeignet ist.

35

Tierversuche

3 Versuchsgruppen (schwarzbunte Färsen) wurden miteinander verglichen.

5

Die Versuchsgruppen wurden wie folgt behandelt:

## Gruppe 1

erhielt intramuskulär 10 ml eines erfindungsgemäßen  
wäßrigen  $\beta$ -Carotin-Solubilisats enthaltend 450 mg  $\beta$ -Carotin.

10

## Gruppe 2

erhielt eine intramuskuläre Injektion einer öligen  $\beta$ -Carotin-Lösung enthaltend 450 mg  $\beta$ -Carotin.

15

## Gruppe 3

erhielt keine  $\beta$ -Carotin-Injektion.

20

Gemessen wurde der durchschnittliche  $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegel ( $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) der Versuchstiere vor der Behandlung sowie 1, 2, 4 und 32 Tage nach der Behandlung.

25

Gruppe	Durchschnittlicher $\beta$ -Carotin-Plasmaspiegel ( $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ )				
	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 4	Tag 32
1	230	1 547	1 705	1 214	369
2	221	288	371	355	232
3	182	183	191	204	207

30

Wie aus dem Versuch hervorgeht, lag bei Verabreichung des wäßrigen  $\beta$ -Carotin-Injektionspräparates der Blutspiegel zu jedem Zeitpunkt signifikant höher als beim Vergleichs-

35

produkt. Somit ist es möglich, den  $\beta$ -Carotinmangel mit einer einmaligen Injektion für mehr als 1 Monat zu beseitigen und einen physiologischen Brunstablauf zu gewährleisten.

5

10

15

20

25

30

35



Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von  $\beta$ -Carotin-Solubilisaten,  
dadurch gekennzeichnet, daß man in Gegenwart eines  
üblichen Antioxidans in einen auf 160 bis 180°C er-  
hitzten, nicht-ionogenen, zur Herstellung von Solu-  
bilisaten geeigneten Emulgator  $\beta$ -Carotin in Mengen  
von insgesamt 20 bis 30 Gew.%, bezogen auf den Emul-  
gator, einträgt, die heiße homogene Mischung durch Zu-  
gabe von Wasser schnell auf Temperaturen unter 100°C  
abkühlt und durch weitere Wasserzugabe die Zubereitung  
auf die gewünschte Konzentration von 3 bis 6 Gew.%  
einstellt.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator einen solchen  
verwendet, der einen HBL-Wert von 12 bis 16 aufweist.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator ethoxylierte  
Triglyceride von Fettsäuren mit 12 bis 18 C-Atomen,  
die 20 bis 60 Oxethyleinheiten enthalten, verwendet.
4. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator Glycerinpoly-  
oxethylenglykolricinoleat verwendet.
5. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator Glycerinpoly-  
oxethylenglykoxistearat verwendet.

6. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator polyoxethylierte  
Sorbitanfettsäureester verwendet.
- 5 7. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator Polyoxethy-  
len(20)sorbitanmonooleat verwendet.
- 10 8. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator Polyoxyethy-  
len(20)sorbitanmonostearat verwendet.
- 15 9. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als nicht-ionogenen Emulgator Monohydroxi-  
stearinsäure mit 15 Oxethyleinheiten verwendet.
- 20 10. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß man als Antioxidans Butylhydroxitoluol, Butyl-  
hydroxianisol, d,l, $\alpha$ -Tocopherol in Mengen von 10 bis  
20 Gew.-%, bezogen auf  $\beta$ -Carotin, verwendet.
- 25 11. Stabile wäßrige Injektionslösungen mit einem  $\beta$ -Carotin-  
-Gehalt von 3 bis 6 Gew.-%, erhältlich durch Eintragen  
von  $\beta$ -Carotin in einen auf 160 bis 180°C erhitzten,  
nicht-ionogenen, zur Herstellung von Solubilisaten  
geeigneten Emulgator in Mengen von insgesamt 20 bis  
30 Gew.-%  $\beta$ -Carotin, bezogen auf den Emulgator,  
schnelles Abkühlen der erhaltenen heißen homogenen  
Mischung durch Zugabe von Wasser auf Temperaturen von  
30 unter 100°C und weitere Wasserzugabe zur Einstellung  
der Zubereitung auf die gewünschte Endkonzentration  
von 3 bis 6 Gew.-%.
- 35

10/085000

STABLE, INJECTABLE SOLUBLE FORMS OF  $\beta$ -CAROTENE, AND METHODS FOR THEIR PREPARATION  
[Stabile injizierbare beta-Carotin-Solubilisate und Verfahren zu ihrer  
Herstellung]

Peter Paul Hoppe, et al.

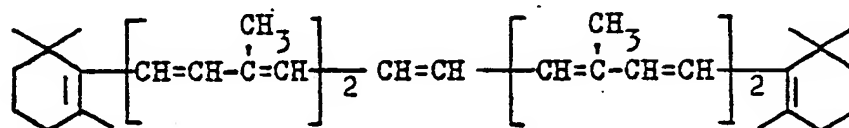
UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
Washington, D.C. November 2000

PUBLICATION COUNTRY	(19) : EP
DOCUMENT NUMBER	(11) : 0055817
DOCUMENT KIND	(12) : A2 (13) :
PUBLICATION DATE	(43) : 19820714
PUBLICATION DATE	(45) :
APPLICATION NUMBER	(21) : 81109220.4
APPLICATION DATE	(22) : 19811029
ADDITION TO	(61) :
INTERNATIONAL CLASSIFICATION	(51) : A61K 9/00
DOMESTIC CLASSIFICATION	(52) :
PRIORITY COUNTRY	(33) : DE
PRIORITY NUMBER	(31) : 3048000
PRIORITY DATE	(32) : 19801219
INVENTOR	(72) : HOPPE, PETER PAUL; SCHNEIDER, JOACHIM U.; SCHULZ, BERNHARD; TIEFENBACHER, HUBERT
APPLICANT	(71) : BASF AKTIENGESELLSCHAFT
TITLE	(54) : STABLE, INJECTABLE SOLUBLE FORMS OF $\beta$ -CAROTENE, AND METHODS FOR THEIR PREPARATION
FOREIGN TITLE	[54A] : STABILE INJIZIERBARE BETA- CAROTIN-SOLUBILISATE UND VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG

# Stable, Injectable Soluble Forms of $\beta$ -Carotene, and Methods for their Preparation /1\*

The present invention relates to stable injectable micellar solutions of  $\beta$ -carotene and a process for their preparation.

$\beta$ -carotene has the chemical formula:



Studies by Lotthammer (cf. Dtsch. Tierärztl. Wschr. # 82 (1975), pp. 444-49; # 83 (1976), pp. 353-58; # 84 (1977), pp. 220-26, and pp. 307-310; and # 85, (1978), pp. 7-12) have shown that  $\beta$ -carotene deficiency in cattle causes a disturbed estrus cycle and poor fertility. A low  $\beta$ -carotene blood level characterizes the deficiency.

So far,  $\beta$ -carotene deficiency has been treated by feeding animals with carotene-rich straight fodder, such as lucerne green meal, grass green meal or carrots, and/or dry synthetic  $\beta$ -carotene powder. However, oral administration of  $\beta$ -carotene has little effect on its level in the blood, because resorption of  $\beta$ -carotene from the intestinal tract is poor.

In contrast, the blood level can be increased rapidly and over a relatively long period of time by parenteral administration of  $\beta$ -carotene.

For that purpose, the formulations to be injected should have a relatively high content of  $\beta$ -carotene in an extremely finely divided

---

\* Numbers in the margin indicate pagination in the foreign text.

form to ensure that the volume to be injected is kept to a minimum.

In the case of animals which have a relatively low level of  $\beta$ -carotene in the blood plasma, it is not possible to increase this level rapidly (within two days) and economically by a gastroenteral route. The  $\beta$ -carotene must be administered parenterally. /2

However, conventional solutions of  $\beta$ -carotene in vegetable oils contain not more than 0.3 to 0.5% (*Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie* [Ullmann's Encyclopedia of Chemical Engineering], Volume 11 (1976), page 106). Such concentrations, however, are too low if the required dose of 500 mg of  $\beta$ -carotene is to be administered in the usual injection volume of 10 to 20 ml.

Japanese patent application No. 38 556/1970 discloses that carotenoid compounds can be converted into water-soluble carotenoid preparations by dissolving them together with aliphatic esters of sugars, heating the solution, and removing the solvent. The solutions of  $\beta$ -carotene which can be prepared in this manner, however, are of only about 0.2% strength.

DE-AS # 12 10 127 discloses carotene emulsions containing polyoxyethylated ricinus oil or polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters as emulsifiers as well as ionic wetting agents. These emulsions, however, are not stable for prolonged periods of time since the carotene crystallizes out.

DE-OS # 22 36 899 therefore proposed the preparation of more highly concentrated emulsions using special soaps, namely soaps of tris-(hydroxymethyl)-aminomethane with saturated or unsaturated fatty acids with 9 to 20 C atoms. The method proposed in that application, /3

however, is not yet satisfactory since, on one hand, the procedure presents difficulties in practice and, on the other, only water-miscible carotenoid emulsions containing not more than 4% of  $\beta$ -carotene can be prepared.

The object of this present invention is therefore to prepare relatively highly concentrated clear stable emulsions or micellar solutions of  $\beta$ -carotene.

This present invention concerns a process for the preparation of  $\beta$ -carotene micellar solutions wherein a non-ionic emulsifier which is suitable for the preparation of micellar solutions is heated at from 160° to 180° C, and a total of from 20 to 30% by weight, based on the emulsifier, of  $\beta$ -carotene is introduced in the presence of a conventional antioxidant, the hot homogeneous mixture is cooled rapidly to temperatures of below 100° C by adding water, and the formulation is set to the desired concentration of between 3 and 6% by weight by adding further water, as well as the stable injectable  $\beta$ -carotene micellar solutions obtainable by this process.

It is surprising that not just a milky turbid  $\beta$ -carotene emulsion, but a transparent  $\beta$ -carotene micellar solution containing up to 6% by weight of  $\beta$ -carotene, can be obtained in the manner described.

Non-ionic emulsifiers which are suitable for the preparation of micellar solutions are those having an HLB value (cf. H. P. Fiedler, *Lexikon der Pharmazie, Kosmetik und angrenzenden Gebiete* [Lexicon of Pharmaceutics, Cosmetics, and Related Fields] 1971, pgs. 263-270, in particular pgs. 267-69) of 12 to 16, especially oxyethylated triglycerides of fatty acids with 12 to 18 C atoms containing 20-60

oxyethylene units oxyethylated sorbitan fatty acid esters with about /4  
20 oxyethylene units, or oxyethylated monohydroxy-fatty acids with 14 to  
17 oxyethylene units, such as are disclosed in DE-OS # 29 11 241. Such  
emulsifiers are also called solubilizers because they are soluble in  
water and thereby act as solubilizing agents for lipophilic substances  
by keeping these in micellar solution. Micellar solutions are  
transparent and clear.

Examples of particularly suitable non-ionic emulsifiers are:

Glyceryl polyoxyethylene glycol ricinoleate, glycerol  
polyoxyethylene glycol hydroxystearate, polyoxyethylene(20)sorbitan  
monooleate, polyoxyethylene(20)sorbitan monostearate, and  
monohydroxystearic acid with 15 units of ethylene oxide.

Specifically, the micellar solutions are prepared by adding between  
20 and 30% by weight, based on the emulsifier, of  $\beta$ -carotene a little at  
a time to the emulsifier heated to 160° to 180° C, which can contain  
conventional antioxidants, whereupon the  $\beta$ -carotene melts and dissolves  
virtually immediately. The mixture is rapidly brought to below 100° C by  
adding water, and the formulation is then set to the desired  
concentration by adding further water. After filtration and cooling to  
room temperature, a stable 4 to 6%, preferably about 5%, strength by  
weight transparent micellar solution is obtained, which remains for 12  
months.

Examples of conventional antioxidants that can be used in the  
process according to this present invention are butylhydroxytoluene,  
butylhydroxyanisole and d,l- $\alpha$ -tocopherol. The antioxidants are /5  
generally used in amounts of from 10 to 20% by weight, based on the  $\beta$ -



carotene employed.

According to the examples in DE-OS # 22 36 899, temperatures above 110° C should be avoided when the  $\beta$ -carotene is introduced into the emulsifier. This requirement is understandable to those skilled in the art, since at higher temperatures, isomerization of  $\beta$ -carotene is to be feared.

It is therefore surprising that the process according to this present invention gives a micellar solution with a concentration that is high enough for injection purposes and which achieves its full effect in animals, even though some of the  $\beta$ -carotene has probably been isomerized.

#### Example

300 g of Chromophor EL® (glycerolpolyoxyethyleneglycol ricinoleate) and 6 g of butylhydroxytoluene are introduced into a 2-1-4 necked round-bottomed flask fitted with a stirrer, nitrogen inlet, and reflux condenser. The mixture is heated to an internal temperature of 160° C while being stirred and gassed with nitrogen. 66 g of  $\beta$ -carotene are added over a period of approx. 5 minutes. The heating bath is removed, and water is added drop-by-drop until the internal temperature of the mixture has dropped to 100° C. The mixture is brought to between 60° and 80° C by quickly adding the remainder of the water (total amount: 828 g) and by using the heating bath. The still warm micellar solution is filtered through a glass filter frit. A  $\beta$ -carotene solution with a concentration of approx. 5% is obtained that can be used as an injection solution.

## Animal Experiments

/6

3 experimental groups (Friesian heifers) were compared.

They were treated as follows:

### Group 1

received 10 ml of an aqueous  $\beta$ -carotene micellar solution according to this present invention containing 450 mg of  $\beta$ -carotene, intramuscularly.

### Group 2

received an intramuscular injection of an oily  $\beta$ -carotene solution containing 450 mg of  $\beta$ -carotene.

### Group 3

received no  $\beta$ -carotene injection.

The average plasma levels of  $\beta$ -carotene ( $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) in the test animals were measured before the treatment, as well as 1, 2, 4 and 32 days after the treatment.

Group	Average plasma $\beta$ -carotene level				
	( $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ )				
	Day 0	Day 1	Day 2	Day 4	Day 34
1	230	1547	1705	1214	369
2	221	288	371	355	232
3	182	183	191	204	207

As shown by the experiment, when the aqueous  $\beta$ -carotene injection preparation was administered, the blood level was at all times significantly higher than when the comparative product was administered. It is therefore possible to eliminate  $\beta$ -carotene

/7

deficiency for more than one month and to ensure a physiological estrus cycle with a single injection.

Claims:

/8

1. A process for the preparation of a  $\beta$ -carotene micellar solution, wherein, in the presence of a conventional antioxidant, in a non-ionic emulsifier suitable for the manufacture of micellar solutions and heated to between 160° and 180°,  $\beta$ -carotene is added at total quantities between 20 to 30% by weight, based on the emulsifier, the hot mixture is quickly cooled to a temperature below 100° C by adding water, and the chilled formulation is set to the desired concentration of between 3 and 6% by weight by adding additional water.

2. The process according to Claim 1 wherein a non-ionic emulsifier with a HBL value between 12 and 16 is C atoms is used as the non-ionic emulsifier.

3. The process according to Claim 1 wherein ethoxylated triglycerides of a fatty acid with between 12 and 18 C atoms containing 20-60 oxyethylene units is used as the non-ionic emulsifier.

4. The process according to Claim 1 wherein glycerol polyoxyethylene glycolrincinoleate is used as the non-ionic emulsifier.

5. The process according to Claim 1 wherein glycerol polyoxyethylene glycoloxystearate is used as the non-ionic emulsifier.

6. The process according to Claim 1 wherein a polyoxyethylated sorbitan fatty acid ester is used as the non-ionic emulsifier. /9

7. The process according to Claim 1 wherein polyoxyethylene-20-sorbitan monooleate is used as the non-ionic emulsifier.

8. The process according to Claim 1 wherein polyoxyethylene-20-

sorbitan monostearate is used as the non-ionic emulsifier.

9. The process according to Claim 1 wherein monohydroxystearic acid with 15 units of ethylene oxide is used as the non-ionic emulsifier.

10. The process according to Claim 1 wherein from 10 to 20% by weight, based on the  $\beta$ -carotene, of butylhydroxytoluene, butylhydroxyanisole or d,l- $\alpha$ -tocopherol is used as the antioxidant.

11. Stable aqueous injection solutions which contain between 3 and 6% by weight of  $\beta$ -carotene which are obtained by introducing  $\beta$ -carotene between 20 to 30% by weight, based on the emulsifier, into an non-ionic emulsifier suitable for the manufacture of micellar solutions and heating to between 160° and 180°, quickly cooling the hot mixture to a temperature below 100° C by adding water, and setting the chilled formulation to the desired concentration of between 3 and 6% by weight by adding additional water.